

03.04.00

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 26 MAY 2000

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application:

1999年 4月 2日

ESU

出 願 番 号  
Application Number:

平成11年特許願第095654号

出 願 人  
Applicant(s):

明治製菓株式会社

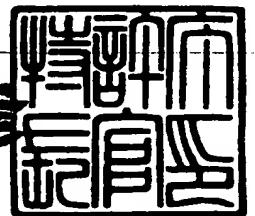
PRIORITY  
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 5月12日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

近藤 隆彦



出証番号 出証特2000-3032602

【書類名】 特許願

【整理番号】 PM1495

【提出日】 平成11年 4月 2日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A61K 49/00

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都新宿区新宿 6 - 1 - 1 東京医科大学内

    【氏名】 長江 恒幸

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都新宿区新宿 6 - 1 - 1 東京医科大学内

    【氏名】 會沢 勝夫

【特許出願人】

    【識別番号】 000006091

    【氏名又は名称】 明治製菓株式会社

    【代表者】 北里 一郎

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 008305

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

    【物件名】 要約書 1

    【物件名】 図面 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

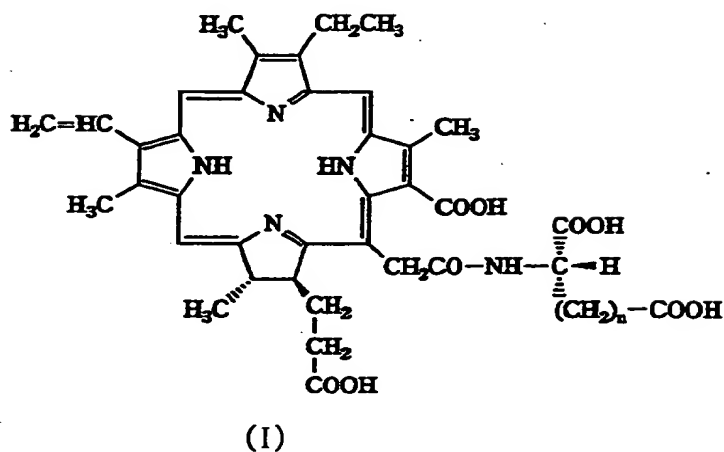
【発明の名称】 再狭窄抑制剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記一般式 (I)

【化 1】



(式中、nは1または2の整数を示す) で表される化合物もしくは薬理学的に許容されるその塩を有効成分とすることを特徴とする再狭窄抑制剤。

【請求項 2】 請求項 1 に示される一般式 (I) で表される化合物またはその塩がモノーレーアスパルチルクロリン e 6 またはその四ナトリウム塩である請求項 1 記載の再狭窄抑制剤。

【請求項 3】 経皮経管的冠動脈形成術後および経皮経管的血管形成術後の再狭窄時に用いるところの請求項 1 および請求項 2 記載の再狭窄抑制剤。

【請求項 4】 照射ファイバーをバルーン内部に配置して血管内腔中心を維持し、かつ血液による干渉を除外した条件でレーザー照射し、選択的に血管内膜肥厚を抑制するための P-D-T 治療に用いる請求項 3 記載の再狭窄抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【発明の属する技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は経皮経管的冠動脈形成術（以下 P T C A と略す。）後、あるいは経皮経管的血管形成術（以下 P T A と略す。）後の再狭窄を抑制するのに使用する内膜肥厚抑制剤組成物に関するものである。

【 0 0 0 2 】

【従来の技術】

光化学療法（以下 P D T と略す。）とは、紫外線またはレーザ光の照射により励起される光感受性物質の投与により治療を行なう方法であり、前投与された光感受性物質が集積して存在する生体組織部位または光感受性物質を含む血液中あるいは血流を対外循環させたものに光の照射を施すなどにより光感受性物質を励起して治療を行なう化学療法である (Ann.Vasc.Surg.Vol.9,p80-86,1995, Cardiovasc.Surg.Vol.3,p489-494,1995)。

【 0 0 0 3 】

特公平 6-88902号公報および特公平 6-89000号公報には、蛍光性のテトラピロール誘導体、例えばモノーL-アスパルチルクロリン e 6 およびモノーL-グルタミルクロリン e 6 あるいはそれらの塩を、光化学療法剤として腫瘍の診断および治療に用いることが記載される。

【 0 0 0 4 】

また、上記のテトラピロール化合物が心筋梗塞・狭心症を誘発する冠動脈硬化症、一過性脳虚血症・脳梗塞を誘発する脳動脈硬化症などの動脈硬化症の病変部に選択的に集積し、治療効果のあることが報告されている（特開平 4 - 3 3 0 0 1 3 号公報）。

【 0 0 0 5 】

一方、動脈硬化に基づく虚血性動脈疾患の治療としては P T C A や P T A が一般に用いられている。しかし、術後に 3 0 % ~ 6 0 % の割合で再狭窄が生じるという問題点がある。血管の再狭窄は内膜平滑筋細胞の増殖および遊走による新生内膜肥厚によるもので、その発症機序は次の様に考えられている。バルーンにより動脈硬化病巣の狭窄部を拡張する際に血管内皮細胞およびその周辺の組織が損傷されると内皮下組織が露出し、血小板を活性化する。活性化した血小板は損傷部位に対する修復反応として粘着・凝集し、PDGF（血小板増殖因子）や TGF- $\beta$ （

形質転換増殖因子)等の平滑筋増殖因子を放出する。更にマクロファージが障害部位に浸潤し、そこで各種増殖因子を放出する。これらが中膜平滑筋細胞の分化、増殖、遊走の引き金となり、これらの刺激により新生内膜を形成する平滑筋細胞自身も増殖因子を放出して長期にわたって内膜肥厚が形成される。その結果、再狭窄が起こる(血管と内皮、6,56-64,1996)。

【0006】

これ迄に抗アレルギー薬、ACE阻害薬、angiotensin II拮抗薬、抗血小板薬、PDE III阻害薬等の幾つかの薬剤でPTCAまたはPTA治療後の内膜肥厚の抑制作用が動物試験で認められている(特開平9-188619, 特開平8-176013, 特開平7-25768)。その作用機序は上記の発症機序の過程を抑制・阻害するものである。しかしながら動物とヒトにおけるそれぞれの関与の違いなどから有効性に大きな開きがある。現在、臨床の間では各種の補助的な薬物療法の外、ステントの併用が行われ一定の効果をあげているが、未だ十分ではなく、更に有効な治療法が待たれている(Dtsch.med.Wschr, Vol.123, p840-846, 1998)。

【0007】

一方、PDT治療薬としては現在、フォトフリンが抗癌薬として臨床で用いられている。フォトフリンは投与後照射迄の時間が48~72時間であること、皮膚光過敏症は4週間まで持続することから、投与後4週間の遮光期間を要し入院期間が長い上、患者のQOLを低下させている(日レ医誌、Vol. 18, p295-300, 1997)。これに対してモノーレーアスバルチルクロリンe6または四ナトリウム塩は投与後照射迄の時間が4~6時間と極めて短く、皮膚過敏性の消失時間は2週間程度で従来の2分の1である。

【0008】

本発明者らは当初、血管形成術(PTCAまたはPTA)に対して、棒状照射ファイバーを用いるレーザの血管内照射により血管の再狭窄を抑制する治療方法を報告した(第62回日本循環器学会学術集会発表抄録集、p465, 1998)。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

このようにモノーアスパルチルクロリン e 6 は、棒状照射ファイバーを用いたレーザの血管内照射により、再狭窄抑制効果を有することが明らかになったが、棒状照射ファイバーの場合には、センタリング（血管の中央に位置させる事）が困難であること、また血液（及び血液中の薬剤）による干渉すなわちレーザの到達障害があることから、部位によって再狭窄抑制効果が異なったり、効果が不十分となることが認められた。従って、本発明が解決しようとする課題は、均一で安定なレーザ照射条件を見出し、モノーアスパルチルクロリン e 6 の持つ再狭窄抑制剤としての効果を高めることである。

#### 【0010】

##### 【課題を解決するための手段】

上記の課題を解決するために、鋭意研究した結果、PDT治療薬としてモノーアスパルチルクロリン e 6 を用い、照射ファイバーをバルーン内部に配置して血管内腔中心を維持し、かつ血液による干渉を除外した条件でPDTを実施することにより、再狭窄の原因である内膜肥厚抑制効果が安定して均一に得られることを確認して、本発明を完成した。

#### 【0011】

照射ファイバーをバルーン内部に配置して血管内腔中心を維持し、かつ血液による干渉を除外した条件を得るためには、経皮経管的冠動脈形成術（PTCA）あるいは経皮経管的血管形成術（PTA）に用いる市販あるいは公知のバルーン装置および食道粘膜や肺気管部の腫瘍治療のためのPDTに用いられる市販あるいは公知のレーザ照射用ファイバーを適宜、組み合わせて用いることが可能である。

#### 【0012】

##### 【発明の実施の様態】

本発明は、光感受性物質であるモノーアスパルチルクロリン e 6 をPDT用薬剤として投与し、血管内からレーザ照射する際の条件を規定してモノーアスパルチルクロリン e 6 が持つ再狭窄抑制剤としての効果を高める事を特徴としている。レーザ照射の条件を規定するためには、市販あるいは公知の装置が適宜組み合

わせて用いられるが、1) バルーン膜の材質がレーザを透過すること、2) バルーンを拡張することによって照射ファイバーが血管内腔の中心に維持され血管壁に均一にレーザ照射出来ること、および3) バルーンを拡張することによって血流を制限することができることの3条件を満たす性能であれば、どのようなものでも、本発明の方法として使用することができる。

## 【0013】

下肢大動脈のように太い血管を対象とする場合には、肺癌や食道癌の治療のためのPDT用に市販されているバルーン型照射ファイバーを使用することも可能である。

また、市販の各種インターベンション用カテーテルに、棒状の照射ファイバーを挿入してレーザ照射する方法も本発明の方法として用いることが可能である。例えば、Eur J Vasc Endovasc Surg Vo.16(4),p284-291 (1998)にはPTA用バルーンカテーテルのガイドワイアを取り除いた後に、棒状照射ファイバーを挿入してレーザ照射する方法が記載されている。

## 【0014】

同様に、冠動脈を対象とする場合には、市販のPTCA用バルーンカテーテルと同様な構造を有し、バルーン部分がレーザを透過できる材質で出来ているものであればPTCAを実施後、ガイドワイヤー挿入口より棒状照射ファイバーを挿入して使用することも可能である。また、照射ファイバーに適当な材質のX線マーカーをつけて照射ファイバーの位置の確認が出来るようにすることも公知の方法として本発明に使用可能である。更に、冠動脈の血流を適度に維持出来る様に改変した構造のものを用いた方法でも、本発明の目的に沿うものであれば使用可能である。また、近年、バルーンカテーテル使用時にはステント利用が一定の効果を示しており、ステント留置と組み合わせたPDTを行うことも可能である。

## 【0015】

図1に、本発明の実施様式の概念を示した。図1では、バルーンカテーテルに照射ファイバーを組み込んで照射する方法を示しているが、バルーンカテーテルによるPTCAまたはPTA実施後に照射ファイバーを挿入して、照射することも可能である。また、バルーンカテーテルによるPTCAまたはPTA実施後、

新たに照射ファイバーを組み込んだバルーンカテーテルを挿入して照射する方法も可能である。

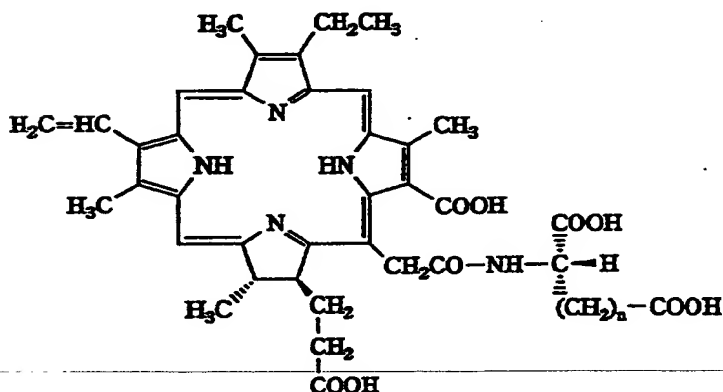
【0016】

装置はバルーンとファイバーの一体型と分離型が使用される。一体型では装置を血管内に挿入し、PTCAまたはPTA施行部位に留置した後、レーザを照射する。分離型では鞘構造のバルーンを先に血管内へ挿入し、治療部位に留置する。必要に応じて挿入に先立ちガイドワイヤーを利用する。更にファイバーを治療部位に合う様にバルーンの鞘の内側へ挿入して留置した後、レーザを照射する。次に本発明の薬剤（モノ-L-アスパルチルクロリン e 6・四ナトリウム塩：以下 NPe 6 と略す。）を投与後、治療部位でバルーンを膨張させ血流を遮断する。次にレーザを至適な条件で照射する。照射後、装置を血管内より抜き去る。以上のようにして PDT 治療により血管平滑筋の増殖が抑制され、PTCA または PTA 施行部位の再狭窄が抑制される。

【0017】

即ち、本発明により、一般式 (I)（式中、n は 1 または 2 の整数を示す）で表される化合物もしくは薬理学的に許容されるその塩を有効成分とする再狭窄抑制剤を提供するものである。

【化 2】



(I)

【0018】



上記の一般式 (I) で表される化合物のうち、 $n = 1$  の化合物は上記の式に示されるテトラピロール環の側鎖部分である基  $-CH_2COOH$  に L-アスパラギン酸がそのアミノ基でアミド結合している形の化合物であり、この化合物がモノ-L-アスパルチルクロリン e 6 である。この化合物の 4 個のカルボキシル基において、四ナトリウム塩の形であるのが好ましい。

## 【0019】

上記の一般式 (I) で表される化合物のうち、 $n = 2$  の化合物は、上記の L-アスパラギン酸の代わりに L-グルタミン酸がアミド結合している形の化合物であり、これがモノ-L-グルタミルクロリン e 6 である。

## 【0020】

本発明で用いる一般式 (I) の化合物は、一般的には、塩基と結合して塩を生成してもよい。塩基と反応して形成される塩としては、例えばナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウム、トリエチルアンモニウム、トリメチルアンモニウム、モルホリンおよびピペリジンとの塩がある。

## 【0021】

本発明による治療対象となる疾患として各種の腫瘍、加齢性黄斑変性症などの眼底疾患、アテローム性動脈硬化症および四肢の末梢血管、冠動脈、脳動脈を始め全ての血管に対する血管内膜肥厚、例えばステント、静脈グラフト・人工血管使用後の血管再狭窄や血管形成術に起因するものを含む血管内膜肥厚があげられる。

## 【0022】

本発明の組成物で有効成分の化合物は、経口的にあるいは静脈内または筋肉内注射により非経口的に投与することができる。また経皮的にも投与できる。例えば、本発明の組成物は有効成分の化合物をナトリウム塩の形で含み、しかも凍結乾燥した無菌のかつ発熱物質を含まない組成物として製剤することができる。

## 【0023】

経口投与の場合の本発明組成物では、有効成分の化合物を固体または液体状の担体と混和することができ、錠剤、口腔剤、トローチ剤、カプセル剤、懸濁剤、シロップ剤等の形で製剤とすることができる。

【0024】

本発明の組成物における有効成分の化合物の含量割合は剤形によって異なるが、好都合な含量割合は投与単位物の重量の約2～60%の範囲にあるのがよい。

【0025】

本発明の組成物の注射用の望ましい製剤形態としては、有効成分の化合物を含む無菌の水溶液または分散液あるいは無菌の凍結乾燥剤がある。担体としては例えば水、エタノール、グリセロール、プロピレングリコール、植物油などが好ましい。

また多くの場合、等張剤、例えば糖または塩化ナトリウムを含むことが好ましい。

【0026】

本発明の組成物の注射用製剤の場合では、有効成分の化合物の吸収を遅らせる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムあるいはゼラチンを配合させることができる。

【0027】

本発明の医薬組成物に含まれる有効成分の化合物の投与量は治療の目的によって異なるが、一般的には成人に対し一回当たり  $0.01 \sim 5.0 \text{ mg/kg}$  体重、好ましくは  $0.1 \sim 1.0 \text{ mg/kg}$  体重を投与する。

【0028】

モノーL-アスパルチルクロリン e 6 またはこれの四ナトリウム塩を投与して、数分から数十時間経過後に、好ましくは0.5～6時間後に病変部位に光線を照射する。PDT用の照射源については限定されないがレーザ光線が好ましい。

レーザ光線の照射には、フィルターを通した強力な連続光源、励起した色素または他のレーザ、および送光システム等が使用される。照射するレーザ光は  $360 \sim 760 \text{ nm}$ 、好ましくは  $560 \sim 760 \text{ nm}$  の波長が用いられ、より好ましくは  $664 \text{ nm}$  が用いられる。照射強度は適宜に選択され、通常は  $10 \sim 1000 \text{ mW/cm}^2$ 、好ましくは  $20 \sim 500 \text{ mW/cm}^2$  の範囲が用いられる。照射エネルギー量は  $J = W \times \text{sec}$  で算出され、腫瘍の場合は  $50 \sim 200 \text{ J/cm}^2$  が用いられるが、本発明の再狭窄抑制の為に血管内照射はより少ない照射量（1～1

0 0 J / c m<sup>2</sup>) で十分である。

【 0 0 2 9 】

本薬物を投与後、P D T 用のバルーン付きファイバーは P T C A または P T A 用のバルーンの治療と同時または前後の至適なタイミングに血管内に挿入し、狭窄を拡張した部位にレーザの発光部があたる様に確認し保定する。P D T 用バルーンの内部には造影剤、生理食塩水などを注入し、至適な圧力で拡張させ、一定時間のレーザ照射後に P D T 用バルーン付きファイバーを抜き取って、常法の処置をし、本治療を終了させる。

【 0 0 3 0 】

本発明を以下の実施例により説明するが、本発明はこれらの例に限定されるものではない。

【実施例】

実施例 1

体重約 4 k g のウサギに、N P e 6 ( 2 . 5 m g / k g ) を静脈内投与後に大腿動脈から 2 F バルーンカテーテルを下腹部大動脈まで挿入後、バルーンを拡張させたまま引き抜き、動脈傷害モデルを作成した。N P e 6 投与 3 時間後、照射ファイバー ( アクリル製、外径 0 . 5 m m 、発光部 1 5 m m ) を挿入しバルーン傷害部位の腹部大動脈にレーザ照射した ( 5 0 、 1 0 0 J / c m<sup>2</sup> ) 。 P D T 用レーザ光源は半導体レーザ ( 波長 6 6 4 n m ) を使用した。P D T 後 4 日、2 週間、4 週間後に P D T 施行部位の病理学的検討を行なった。その結果、血管内照射法での P D T 4 日後の病理所見では血管内側から外側まで広範囲に中膜細胞の破壊が観察され、2 週間及び 4 週間後の病理所見では新生内膜の肥厚が抑制されたが、血管構築に係る部分には障害はなかった。

【 0 0 3 1 】

実施例 2

体重約 4 k g のウサギに、N P e 6 ( 2 . 5 m g / k g ) を静脈内投与後に大腿動脈から 2 F バルーンカテーテルを下腹部大動脈まで挿入後、バルーンを拡張させたまま引き抜き、動脈傷害モデルを作成した。N P e 6 投与 3 時間後、2 種類の照射ファイバー ( Medlight 社製バルーン付きファイバーおよび実施例 1 で用

いた従来型の棒状ファイバー)のいずれかを挿入し、バルーン傷害部位の腹部大動脈を50または100 J/cm<sup>2</sup>の強度でレーザー照射した。PDT用レーザー光源は半導体レーザー(波長664 nm)を使用した。PDT後、2週間後にPDT施行部位の病理学的検討を行ない、血管中膜面積および新生内膜面積を測定した。中膜に対する新生内膜の面積比を指標にし内膜肥厚の程度を比較し、その結果を表1に示した。表1の結果からわかるように、NPe6は共に再狭窄を抑制するが、従来の棒状照射ファイバー使用よりもバルーン付き照射ファイバー使用のほうが、内膜肥厚の阻害率が高いことがわかった。なお、阻害率は数1に示される式により求める。

【0032】

【表1】

バルーン傷害後の内膜肥厚に対するNPe6によるPDT治療の効果

処置条件 薬物・レーザー照射	内膜肥厚面積／中膜面積	阻害率%
無投与・無処置	1.22 ± 0.32	—
NPe6 (2.5mg/kg) 従来型棒状 照射ファイバー使用 (100J/cm <sup>2</sup> )	0.87 ± 0.37	28.7
NPe6 (2.5mg/kg) バルーン付き 照射ファイバー使用 (50J/cm <sup>2</sup> )	0.68 ± 0.21	44.3

N=3

【0033】

【数 1】

$$\text{阻害率} = \frac{\text{無処置群の内膜肥厚面積と中膜面積の比} - \text{処置群の内膜肥厚面積と中膜面積の比}}{\text{無処置群の内膜肥厚面積と中膜面積の比}} \times 100$$

【0 0 3 4】

【発明の効果】

本発明ではバルーン付きファイバーを用いるレーザー照射を行うことにより、局所での血液による干渉とセンタリングの両問題を解決し、従来の治療効果に比べて、均一でより良好な治療効果を得られる。

バルーンによる血管形成術後の内膜肥厚を対象に考えた場合には、モノーレーアスパルチルクロリン e 6 は血管形成術の直前・直後の投与が可能となることや、局所集積により投与量が癌適応よりも減少することが期待され、皮膚過敏性の面で大幅な改良が期待される。

【0 0 3 5】

【図面の簡単な説明】

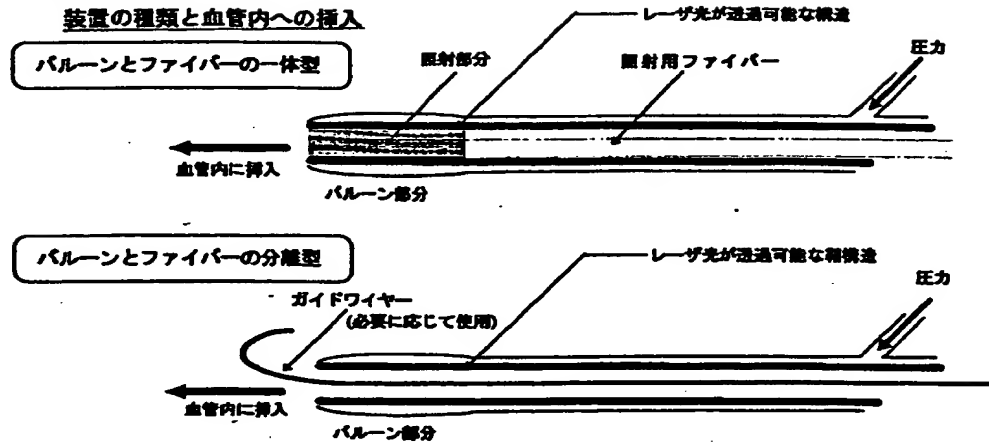
【図 1】

本発明の概念図を示す。

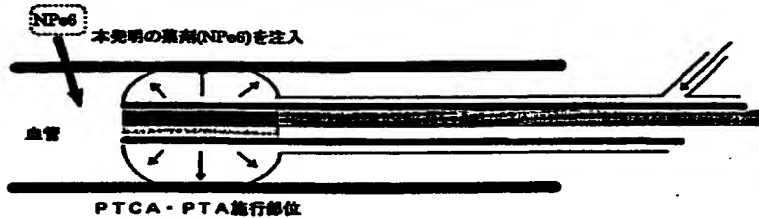
【書類名】 図面

【図 1】

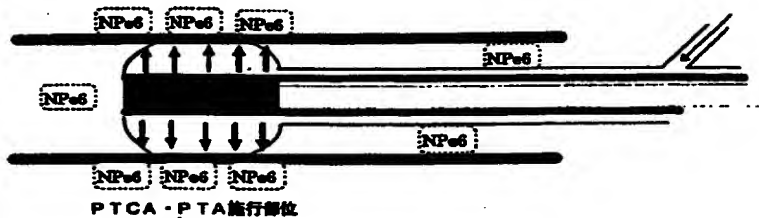
**本発明の概念図**



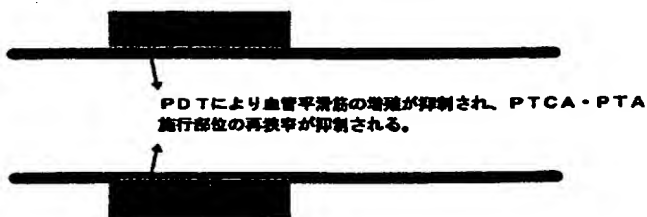
**薬剤投与後、PTCA・PTA施行部位でのバルーニング**



**レーザー照射**



**レーザー照射部位での再狭窄の抑制**



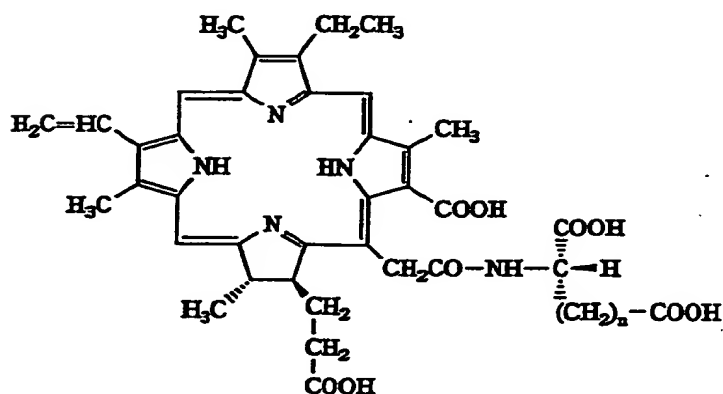
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 経皮経管的冠動脈形成術後または経皮経管的血管形成術後の再狭窄を抑制し、光化学療法に用いるための新規な医薬組成物を見出すこと。

【解決手段】 一般式(I)

【化1】



(I)

(式中、 $n$ は1または2の整数を示す)で表される化合物もしくは薬理学的に許容されるその塩を有効成分とする再狭窄抑制剤を見出した。

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000006091]

1. 変更年月日 1990年 8月 3日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 東京都中央区京橋2丁目4番16号  
氏 名 明治製菓株式会社